

妊娠中毒症における腎病変の免疫組織学的解析

新潟大学医学部産科婦人科学教室（主任：竹内正七教授）

内 山 三 枝 子

Immunohistochemical Analyses of Renal
Lesions in Toxemia of Pregnancy

Mieko UCHIYAMA

*Department of Obstetrics and Gynecology Niigata
University School of Medicine
(Director: Professor Shoshichi Takeuchi)*

Toxemia of pregnancy is a disorder induced by human pregnancy, which influences the prognosis of both mother and fetus. Its etiology, however, has not yet been fully elucidated. Pregnancy per se is a naturally established allotransplantation, where fetus is not rejected by allogeneically different mother, and various sorts of immunologic phenomenon can be observed in pregnant women. And concerning toxemia of pregnancy, immunologic mechanisms might be implicated with its pathogenesis, especially with the pathogenesis of renal lesions. In this context, the renal specimens, obtained at just delivery or at puerperium state, were analysed by means of immunohistochemical method.

Renal specimens directly biopsied from 4 patients with toxemia of pregnancy at delivery, who underwent cesarean section, and blindly biopsied from 10 patients in postpartum state. The specimens were examined by an immunoperoxidase technique using monoclonal antibodies: anti-Leu1 (pan T cell), anti-Leu2a (cytotoxic/suppressor T cell), anti-Leu3a (helper/inducer T cell), anti-Leu14 (B cell), anti-M3 (monocyte macrophage), anti-Leu5b (E rosette forming cell) and anti-Factor VIII related antigen (endothelial cell). In the renal tissues taken at delivery, the most prominent features in the glomeruli was swelling of endothelial cells and narrowing of capillary lumens. Infiltration of mononuclear inflammatory cells (MICs) was observed in the interstitium and also in the glomeruli. They consisted of predominately T cells and helper/inducer cells were more commonly observed than cytotoxic/suppressor T cells. Macrophages/

Reprint requests to: Mieko UCHIYAMA,
Department of Obstetrics and Gynecology,
Niigata University School of Medicine,
Niigata City, 951, JAPAN.

別刷請求先：〒951 新潟市旭町通1番町
新潟大学医学部産科婦人科学教室
内山三枝子

monocytes and B cells were observed to be present in a small number in the interstitium. IgG and IgM were located on the glomerular basement membrane in granular and/or irregular lineal pattern. These findings diminished, and became not detected by 1 month or more after delivery, except scant infiltration of MICs in the interstitium.

These findings suggested that some sorts of immune reaction have an implication with the pathogenesis of renal lesion in toxemia of pregnancy. And moreover, the reversibility of the symptoms of toxemia of pregnancy might be explained by the deduction that immunologic mechanisms play an important role as a causal factor of toxemia.

Key words: Toxemia of pregnancy, nephropathy, Immunohistochemical analyses
 妊娠中毒症, 腎病変, 免疫組織学的解析

I. 緒 言

妊娠中毒症は浮腫・蛋白尿・高血圧を主症状とする疾患で、胎児・母体双方に重大な影響を与える疾患である。その病因として内分泌的要因、凝固系要因などの重要性が指摘されているが、病因・病態はいまだ不明の点が多く学説の疾患と呼ばれている。妊孕現象は母体にとって同種移植片である胎児・胎盤系が拒絶されることなく生着・発育するという自然界における同種移植の成立例とみなすことが可能であるが、そこに種々の免疫反応が生じていることは想像に難くない。近時、妊孕現象に関する免疫学的解析が広く行われているが、妊娠中毒症の病態論を論ずるにあたっては免疫反応の関与は重要であると考えられている。

従来より、妊娠中毒症に関する腎病変の組織学的検討はなされているが、いずれも妊娠中毒症の極期を過ぎた時期における腎 biopsy に基くものであり、極期におけ

る解析はなされていない。そこで本研究においては、妊娠中毒症の極期と考えられる分娩時、特に医学的適応に基いて行われた帝王切開時に腎の open biopsy を行い、また分娩後一定期間において blind biopsy を行い腎組織を採取し免疫組織学的に解析し、妊娠中毒症の病態を解明することを目的とした。

II. 研究 方 法

1. 対象および研究方法

a. 対 象

昭和59年9月より昭和60年8月までに新潟大学医学部附属病院にて入院治療を行った10症例を対象とし、全例が日本産婦人科学会分類(1962年)で純粹型、重症であった(表1)。10症例中7例に母体適応あるいは胎児適応で帝王切開術が施行されており、うち4例に術中、腎の open biopsy を行った。また、10例全てに症状が軽快した分娩後3週間から2カ月までに blind biopsy を施

表 1 症 例

Case	Age	Toxemia	Mode of delivery	Gestational age	fetal body weight
1	27	ePh	vaginal	39*	3,992 g
2	32	EPh	vaginal	35*	1,358 g
3	30	Ph	C-section	32*	980 g
4	27	ePH	C-section	36**	1,950 g
5	32	EPH	C-section	31**	1,810 g
6	32	EPH	C-section	33**	2,200 g
7	31	ePH	vaginal	36*	1,698 g
8	39	ePH	C-section	36*	2,690 g
9	24	EPH	C-section	31**	1,396 g
10	25	ePh	vaginal	35*	2,016 g

* blind biopsy, ** open biopsy

行した。

b. 研究方法

採取した腎組織は二分割し、一方は TISSUETEK O.C.T. compound (Miles scientific) に包埋後、液体窒素中で凍結、cryostat にて厚さ 5 μ の連続切片を作成し、アセトン固定を10分間行った。また、一方は10%ホルマリン固定後パラフィン包埋し、組織切片とした。染色方法は図 1 に示したように行った。すなわち、HE、PAS、PAM-M 染色は従来の方法で行った。免疫グロブリンの局在については抗ヒト IgG、抗ヒト IgM (DAKO) の各、マウスモノクローナル抗体を用い、脱

表 2 モノクローナル抗体

Antibody	Antigen Distribution
anti-Leu-1*	pan-Tcell
2a*	cytotoxic/suppressor T cell
3a*	helper T cell
14*	B cell
5b*	E rosett receptor (+) T cell
M3**	monocyte/macrophage
anti-Factor VIII** related antigen	endothelial cell

* Becton Dickinson, ** Cappel

表 3 免疫酵素抗体法

免疫酵素抗体法 (間接法)	(ABC 法)
1. 脱パラフィン	1. PBS 洗浄 5分3回
2. PBS 洗浄 5分3回	2. 正常馬血清30分
3. 内因性ペルオキシダーゼブロック30分 (streef-kerk 法)	3. モノクローナル抗体30分
4. PBS 洗浄 5分3回	4. PBS 洗浄 5分3回
5. トリプシン処理10分	5. ビオチン標識抗マウス IgG 30分
6. PBS 洗浄 5分3回	6. PBS 洗浄 5分3回
7. PBS 洗浄正常豚血清30分	7. ペルオキシダーゼ標識アビジン30分
8. 一次抗体30分	8. PBS 洗浄 5分3回
9. PBS 洗浄 5分3回	9. ジアミノベンチジン溶液による発色
10. 二次抗体30分	10. PBS 洗派 5分3回
11. PBS 洗浄 5分3回	11. 核染色
12. ジアミノベンチジン溶液による発色	12. 水洗
13. 核染色	
14. 水洗	
15. 脱水, 封入	

表 4 総括

	Gestosis		After delivery	
	Glomerulus	Interstitial	Glomerulus	Interstitial
Morphology*				
double contour		+		±
endothelial swelling		++		-
Immunoglobulin**				
IgM		+		±
IgG		±		±
Leu 1**	+	++	-	+
Leu 2a**	-	+	-	±
Leu 3a**	+	++	-	+
Leu 5b**	-	+	-	±
Leu 14**	-	+	-	±
M3**	-	+	-	-

* HE, PAS, PAM, ** Immunoperxidase

パラフィン後、酵素抗体法の間接法に従って検討した。使用したモノクローナル抗体は表 2 に示した如くであり、negative control として正常マウス血清を用いた(表 2)。酵素抗体法は表 3 に示したように Avidin-Biotin Peroxidase Complex 法に従って行った。また、酵素抗体法の核染色は Meyer の hematoxylin により行った。

III. 成 績

1. HE, PAS, PAM-M 染色

妊娠中毒症極期と判断される帝王切開施行時に採取した腎組織には endothelial swelling および毛細血管の狭小化、基底膜の double contour が観察されたが、症状消退期では、endothelial swelling は見られず、double contour が軽度観察されるのみであった(写真 1, 写真 2)。

2. 免疫グロブリンの局在

免疫グロブリンの沈着は腎糸球体に見られ、症状消退

期に比較し、極期に強く観察された。極期では IgM の沈着が、IgG に比べ強く観察された。

3. モノクローナル抗体による染色

a. endothelial cell を認識する抗 Factor VIII related antigen を用いた染色で極期における腎糸球体の endothelial cell の swelling, 軽度の mesangial cell の増殖, 毛細血管の狭小化が明確に観察された(写真 3)。症状消退期では細胞の膨化, 増殖は観察されなかった(写真 4)。

b. pan T cell を認識する抗-Leu 1, cytotoxic/suppressor T cell を認識する抗-Leu 2a, helper/inducer T cell を認識する抗-Leu 3a, E-rosette 陽性 T cell を認識する抗-Leu 5b, B cell を認識する抗-Leu 14, monocyte/macrophage を認識する抗-M3 による染色で極期には間質のみならず、腎糸球体中にも pan T cell, helper/inducer T cell が観察され、全体としても cytotoxic/inducer T cell に比し helper/inducer T cell 優位であった(写真 5, 写真 6)。monocyte/macrophage

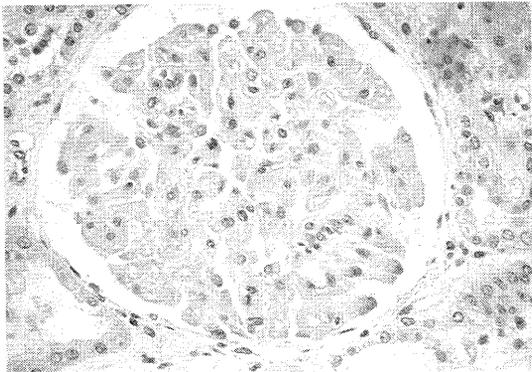


写真 1 極期 H. E.

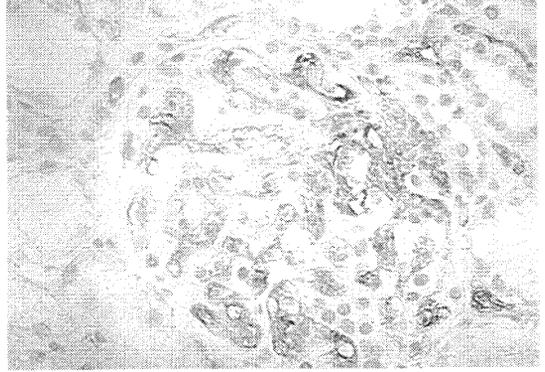


写真 3 極期 抗 Factor VIII related antigen

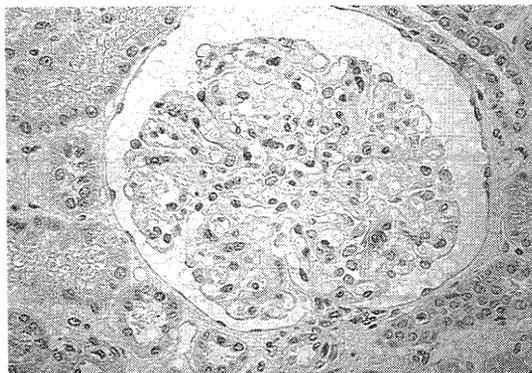


写真 2 消退期 H. E.

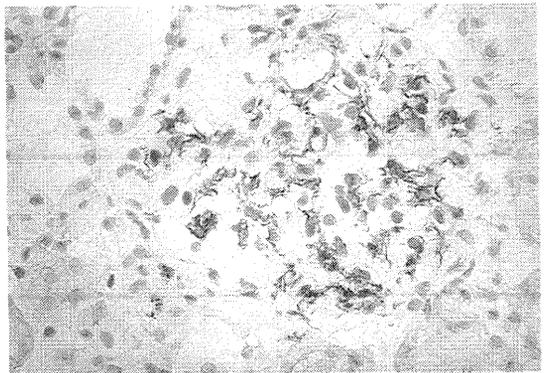


写真 4 消退期 抗 Factor VIII related antigen

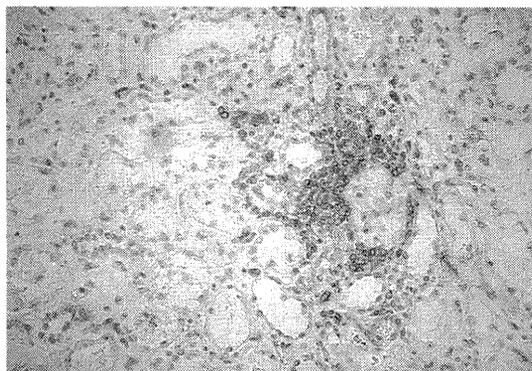


写真 5 極期 抗 Leu 3a

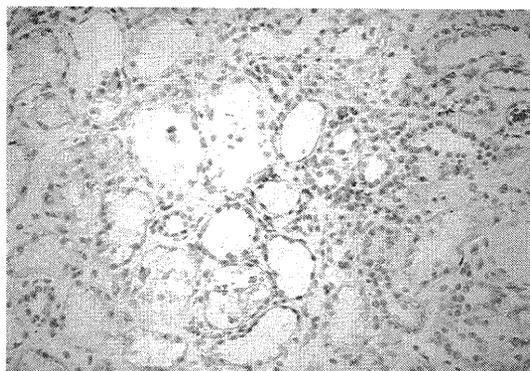


写真 7 極期 抗 M3

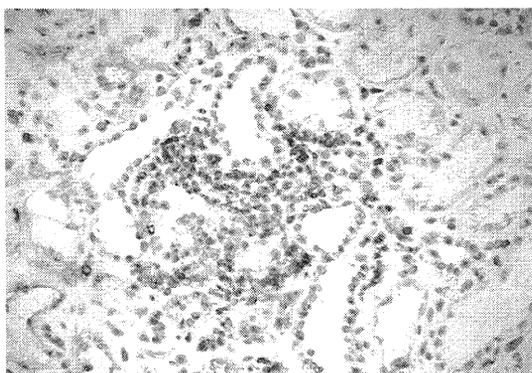


写真 6 極期 抗 Leu 2a

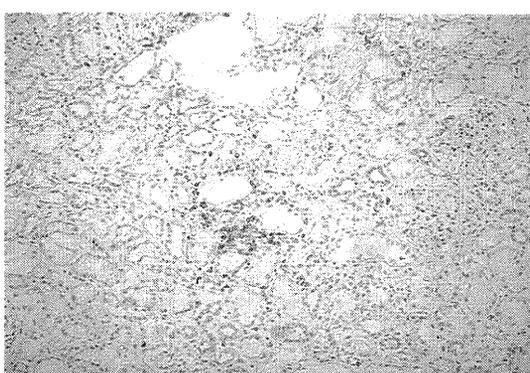


写真 8 消退期 抗 Leu 3a

は間質に観察された (写真 7). E-rosette 陽性 T cell, B cell は間質に少数散在するのみであった. 症状消失期には, これらの細胞は間質に少数観察されるのみであり (写真 8), monocyte/macrophage は見られなかった.

IV. 考 案

妊娠にともない発症する妊娠中毒症は母児双方の予後に重大な影響を与える疾患であり, その病因, 病態の解明は産科領域において重要な命題とされている. しかしながら, その病因, 病態は現在尚不明であり, また腎病変の病因に関しても 1. intravascular coagulation phenomenon, 2. immunological mechanisms, 3. primary endothelial lesion などのメカニズムが提唱されている¹⁾が, いずれも十分なものではない.

光学顕微鏡, 電子顕微鏡により観察される妊娠中毒症の腎病変として, 内皮細胞の腫大, 毛細血管の狭小化, メサンギウム細胞の軽度の増加, 毛細血管の double

contours, fibrin の沈着, immunoglobulins の沈着が典型的な像とされている²⁾. 多くの症例においては分娩を契機に妊娠中毒症の症状が軽快するが, 上記の組織像も症状の軽快とともに改善が観察されている.

今回の免疫組織学的解析においても, 帝王切開施行時に得られた妊娠中毒症極期の腎組織では上記と同様な典型的組織像が観察されたが, 症状が軽快した 1~3 カ月後には, 内皮細胞の腫大, 毛細血管の狭小化, double contours は全く消失し, 免疫グロブリンの沈着もほとんど観察されなかった.

腎における免疫グロブリンの沈着については種々の報告があるが, Nochy らは分娩後 10 日以内の生検では沈着が認められる例がある¹⁾とし, Petrucco らはその沈着が臨床的重症度と関連し, IgM 優位の沈着が重症例ほど観察され, 免疫グロブリンとともに補体の沈着も見られることより, その病因が免疫反応と深い関連性を有することを指摘している²⁾.

腎炎においてその病因に免疫学的機序が関与している

ことは従来より指摘されているところである。これに対し妊娠中毒症は言うまでもなく妊孕現象に伴い発現する疾患であり、その病態を理解するためには妊孕現象の免疫的特殊性を考慮する必要がある。すなわち、母体にとって同種移植片である胎児・胎盤系が生着・発育するという妊孕現象に伴っては種々の免疫反応が母体に生じており妊娠中毒症に認められる腎病変の成因にこのような免疫反応が関与し、腎炎の発症機序と何らかの共通性を持つことが推測される。今回の検討により、妊娠中毒症の極期においては、間質のみならず、腎糸球体にも helper/inducer T cell 優位の infiltration が見られ、間質には macrophage/monocyte が観察され、症状軽快期には、それらの細胞の消失が認められた。腎炎では、Jones が光顕で腎糸球体における単球の存在を報告し³⁾、また Shigematsu は電顕により腎糸球体におけるマクロファージの存在を観察し報告している⁴⁾。一方、腎炎のタイプによりマクロファージの存在に差異が観察され、proliferation を伴わない腎炎ではマクロファージの存在に差異が観察され、proliferation を伴わない腎炎ではマクロファージが認められず、半月体腎炎、SLE 腎症、実験的腎炎などで観察されることより、腎傷害の引金としての役割を担うことが推察されている⁵⁾。また、モノクローナル抗体を用いた解析では、腎移植拒絶反応の急性期における cytotoxic/suppressor T cell の infiltration や微小変化群、半月体腎炎での helper/inducer T cell 優位、間質性腎炎での cytotoxic/suppressor T cell 優位の infiltration が報告され⁶⁾、T cell dependent の腎炎の存在が示唆されている。

妊娠中毒症の極期においてマクロファージの浸潤が腎組織に観察されることは、腎炎の場合と同様、マクロファージが腎における免疫反応の initiation, mediation を担い、その腎障害に重要な役割を果たしていることが推察される。また、helper/inducer T cell 優位の infiltration、免疫グロブリンの沈着と症状軽快期におけるその消退は妊娠中毒症の症状の推移とよく一致しており、その腎病変の成因として免疫学的な機序が深く関与していることを推察させる。

謝 辞

稿を終えるにあたり、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜りました竹内正七教授に深く感謝いたします。また、直接御指導、御協力をいただきました産婦人科学教室の金沢浩二助教授、本間滋助手ほか諸先生に深謝いたします。

尚、本論文の要旨は第38回日本産科婦人科学会総会(昭和61年、東京)において発表した。

参 考 文 献

- 1) Nochy, D., Birembaut, P., Hinglais, N., Freund, M., Idatte, J.M., Jacquot, C., Chartier, M. and Bariery, J.: Renal lesions in the hypertensive syndromes of pregnancy: immunomorphological and ultrastructural studies in 114 cases. *Clin. Nephrol.*, 13: 155, 1980.
- 2) Petrucco, O.M., Thomson, N.M., Lawrence, J.R. and Weldon, M.W.: Immunofluorescent studies in renal biopsies in pre-eclampsia. *Obstet. Gynecol. Survey*, 29: 788, 1974.
- 3) Jones, D.B.: Inflammation and repair of the glomerulus, *Am. J. Pathol.*, 29: 991, 1951.
- 4) Shigematsu, H.: Glomerular events during the initial phase of rat Masugi nephritis, *Virchows Arch (Cell Pathol)*, 5: 187.
- 5) Atkins, R.C., Holdsworth, S.R., Hancock, W.W., Thomson, N.M. and Glasgow, E.F.: Cellular immune mechanisms in human glomerulonephritis: The role of mononuclear leucocytes, *Springer Semin. Immunopathol.*, 5: 269, 1982.
- 6) Stachura, I., Si, L., Madan, E. and Whiteside, T.: Mononuclear cell subsets in human renal disease enumeration in tissue sections with monoclonal antibodies, *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 30: 362, 1984.

(平成元年2月20日受付)